

All'illustro Senatore Pio frat

*Affettuoso omaggio dell'A,
Chocini*

PROF. COSTANTINO GORINI

Direttore del Laboratorio di Batteriologia della R. Scuola Superiore di Agricoltura
di Milano

*(colla speranza di nuovi incontri
..... alpestri !)*

Sulla presenza di batteri acidoproteo- litici nel suolo e sulla loro circolazione nella natura

Estratto dal *Bollettino*, Anno XV, N. 4
Luglio 1922.

*Bf
452*

ASSOCIAZIONE ITALIANA
DELLE INDUSTRIE DELLO ZUCCHERO
E DELL'ALCOOL

PROF. COSTANTINO GORINI

Direttore del Laboratorio di Batteriologia della R. Scuola Superiore di Agricoltura
di Milano

Sulla presenza di batteri acidoproteo- litici nel suolo e sulla loro circolazione nella natura

Estratto dal *Bollettino*, Anno XV, N. 4
Luglio 1922.

ASSOCIAZIONE ITALIANA
DELLE INDUSTRIE DELLO ZUCCHERO
E DELL'ALCOOL

Sulla presenza di batteri acidofili
liberi nel suolo e sulla loro circolazione
nella natura

di G. B. Baccani
1922

ASSOCIATO ALLA
DIREZIONE DELLO STUDIO

Lo spunto per questa Nota mi viene da un recente lavoro di Chr. Barthel (1), direttore della Stazione di Batteriologia Agraria di Stoccolma, il quale ha riscontrato, nel suolo artico e nelle feci degli animali polari della Groenlandia Settentrionale, rappresentanti del gruppo dei batteri acidoproteolitici, di cui egli ha cortesia di riconoscermi la paternità. Data l'importanza di questa sorta di germi così nei riguardi scientifici come in quelli pratici, credo opportuno mettere in corrispondenza i batteri da lui trovati con quelli da me dimostrati in vari altri ambienti, perchè mi porgono occasione di esporre alcune considerazioni sulla loro classificazione, nonchè sulla loro diffusione ubiquitaria e sulla loro circolazione nella natura.

*
* *

I batteri acidoproteolitici isolati dal Barthel appartengono tanto alle forme bacillari quanto alle forme cocciche.

Le forme bacillari comprendono due specie, entrambe isolate dal terreno: un primo bastoncino non identificato e un secondo bastoncino che devesi ascrivere al gruppo del *Proteus vulgaris* Hauser o *Bact. vulgare* Lehmann e Neumann, sebbene Barthel stenti a classarlo, perchè il bacillo da lui descritto non libera indolo e non conferisce odore putrido al brodo nè al latte. Ora conviene osservare che nel gruppo *Proteus* si sono già trovate forme che non producono indolo, quali il *Bact. proteus anindologenes* di Loghem e Pouro (2): inoltre lo stesso Hauser ammette varietà di *Proteus* sprovviste di potere putrefattivo: fra queste avvi il *Proteus Zenkeri* ed anche quella razza di *Proteus mirabilis* di Krål che io ho dimostrato acidopresamigena proteolitica (3). D'altra parte vogliasi considerare che nel gruppo del *Bact. vulgare* domina ancora alquanto disaccordo fra gli A.; alcuni vi comprendono anche il *B. Zopfii*, altri invece fanno del *Zopfii* una specie ben distinta e vi ascrivono il *Pr. Zenkeri*: di questa opinione è lo stesso

Barthel, il quale peraltro trovò nel terreno una varietà di *Zopfii* che peptonifica il latte, mentre il *Zopfii* classico non deve alterare il latte: notevole però che, laddove il *B. vulgare* è acidoproteolitico, questa varietà di *Zopfii* è alcalinoproteolitica. A differenziare lo *Zopfii* dal *B. vulgare* ci sarebbe altresì la mancata liquefazione della gelatina, la quale per opera dello *Zopfii* si rammollisce, si infossa, si incava semplicemente: istessamente si comporterebbe il *Pr. Zenkeri*. A dir vero io non mi sento propenso a distinguere nettamente cotale pseudofusione dalla decisa liquefazione della gelatina: infatti fra i cocchi delle mammele io (4) ho pure notato un tipo pseudo-fondente, cioè semplicemente infossante la gelatina, ma ho altresì avvertito che bene spesso da una colonia pseudofondente si possono ricavare trapianti decisamente fondenti, sia pure lentamente; dipende molto da differenze anche minime nella composizione o nella reazione della gelatina etc., come ben si sa a proposito di altre specie microbiche.

*
* *

Più numerose sono le forme cocciche isolate dal Barthel, parte dal suolo e parte dalle feci: sono degne di speciale menzione quattro, che trovano riscontro nella microflora mammaria: esse sono lo *Streptococcus liquefaciens*, il *Pyogenes albus*, il *Tetracoccus* e il *Micrococcus E*.

Lo *Str. liquefaciens* trovato dal B. nelle feci di vari animali polari è un cocco acidoproteolitico che corrisponde al tipo N. 2 da me descritto nella microflora mammaria colla seguente caratterizzazione: « *Cocco a rapida e sproporzionata fusione limpida* ». Riporto qui la descrizione che io ho dato del comportamento di questo germe in gelatina e in latte, per confrontarla con quella del Barthel. Io scrivevo (4): « Nelle piatte in gelatina questo tipo forma delle colonie puntiformi, le quali si circondano rapidamente (talora assai prima che la colonia si sia resa visibile) di un ampio alone di gelatina fusa limpida, cioè non invasa dalla parte sostanziale della colonia. Ne deriva una sproporzione fra le dimensioni della colonia e quelle della zona di fusione, che in progresso di tempo va accentuandosi, poichè mentre questa si allarga di molto, la colonia ingrossa di poco e anzichè espandersi nella scodella di liquefazione, cade in massa sul fondo di essa. Coagula il latte in 24-48 ore a 37° C., con reazione acida, con espulsione di abbondante siero limpido, giallognolo, e con successiva lenta peptonificazione, la quale però non è mai completa e lascia sempre una porzione di coagulo non digerito ». Barthel a sua volta scrive: « tanto nelle piante quanto nelle infissioni in gelatina il fatto caratteristico dello *str. liquefaciens* è che la gelatina liquefatta è quasi *completamente limpida* e occupa una zona o un canale di fusione molto largo di circa 3 mm. di diametro. In latte è caratteristico il fatto che la peptonificazione del coagulo non è mai completa ». Il Barthel identifica questo germe collo *Str. gracilis* di Escherich (5), che lo dà come abitatore delle feci degli animali carnivori, e col *Micro-*

coccus casei amari di Freudenberg (6); senza entrare nel merito di queste equivalenze, mi limiterò a far notare che sono stato il primo a isolarlo dalle mammelle, dove dopo di me fu ravvisato da diversi A., fra cui il Rogers, il Burri, Orla Jensen che lo denominò appunto *Str. liquefaciens* (7).

Un secondo cocco acidoproteolitico trovato dal Barthel nelle feci è il *M. pyogenes albus*: infatti esso è un rappresentante del gruppo *M. pyogenes* di Rosenbach, che sappiamo dotato della proprietà di liquefare la gelatina nonché di coagulare e peptonificare il latte in reazione acida (Lehmann e Neumann). Loehnis (8) anzi comprende addirittura in questo gruppo i miei cocchi acidopresamigeni. Anche questo gruppo è stato riscontrato da parecchi A. nelle mammelle; anzi taluno vorrebbe che la microflora mammaria lo alberghi normalmente, sebbene in istato avirulento: io non mi sono mai occupato di tale questione, ma ritengo che si possa ammettere pur senza bisogno di dimostrazione che i cocchi mammari possano essere ora provvisti ed ora sprovvisti di proprietà piogene a seconda dello stato dell'organo.

Il terzo cocco, il *Tetracoccus*, trovato nel suolo, sebbene giusta la descrizione del Barthel non si differenzi morfologicamente dallo *Streptococcus liquefaciens* succitato, è stato denominato così perchè fu accostato al genere *Tetracoccus* di Orla Jensen (7), che è precisamente acidoproteolitico comprendendo la specie *M. casei liquefaciens* che equivale al mio *M. casei acidoproteolyticus I* (9); la varietà del Barthel se ne diversificherebbe soltanto per la mancanza di sviluppo alla temperatura ordinaria, onde non ne fu studiato il comportamento in gelatina. A dir vero, si sarebbe potuto verificare ugualmente, come io insegnai in casi consimili, se esso secerna enzima proteolitico anche per la gelatina, vuoi mettendo la gelatino-cultura in termostato e poi osservando se a temperatura bassa risolidifichi oppure no, vuoi mettendo a contatto colla gelatina in termostato una piccola porzione di lattocultura filtrata attraverso candela Chamberland. Comunque, volendo ora stabilire un riscontro anche fra quest'ultimo cocco e i tipi da me descritti, sarei incerto fra quello trovato nel formaggio a cui diedi il nome di *M. casei acidoproteolitycus II* (9), e quello trovato nelle mammelle a cui diedi il nome di *Bacillus minimus mammae* (10), imperocchè entrambi non fondono la gelatina, s'intende alla temperatura delle comuni gelatinocolture. A proposito del *B. minimus mammae*, potrà sorprendere che io l'abbia posto fra i bacilli: ma esso, come avvertii in allora (1905), ha quella forma intermedia fra il bastoncino e la sfera che è comune a molti fermenti lattici, onde ad es., il fermento lattico ordinario va sotto il nome ora di *Streptococcus* ora di *Bacterium* ora di *Coccobacillus lacticus*: io ho preferito specificare il mio coll'aggettivo *minimus*: riconosco però che, stando alla moderna terminologia, non essendo esso sporigeno, gli competerebbe il nome di *Bacterium* anzichè di *Bacillus*: nè posso nulla obbiettare a Loehnis (11) quando dice che esso ha tutti i caratteri di

uno streptococco, come non mi meraviglierei se Orla Jensen lo classificasse nel suo genere *Microbacterium* (7). Dal canto mio vado sempre più diventando alieno dalla creazione di nuovi appellativi che ingenerano una crescente confusione nella tassonomia dei fermenti lattici.

Rimane ora il *Micrococcus E*, trovato nelle feci, del quale Barthel non dice se sia anche caseolitico, ma soltanto che fonde la gelatina e coagula lentamente il latte con debole reazione acida: senonchè in base alla mia lunga esperienza mi permetto di sospettare fortemente che il comportamento di questo batterio sia stato, come d'abitudine, osservato su latte troppo profondamente sterilizzato: e io ho dimostrato (12) che tal sorta di latte non si presta più alle manifestazioni caseolitiche dei batteri acidoproteolitici: laonde io opino che, prima di escludere qualsiasi attività caseolitica in questo germe, sarebbe necessario sperimentarlo su latte sterilizzato blandamente, dirò così al color bianco, cioè non autoclavato. Siffatta precauzione ritengo si dovrebbe avere in tutti i casi di germi coagulanti del latte che fondono la gelatina: troppo leggermente si è sentenziato che alcuni batteri liquefacenti della gelatina sono incapaci di attaccare la caseina: finchè si esperimenta su latte troppo intensamente sterilizzato ad elevato calore e con conseguente idrolizzazione della caseina, non è possibile appurare se un microbo peptonizzi la caseina oppure no. Comunque, poichè questo medesimo cocco era stato in precedenza rinvenuto dal Barthel (13), oltre che nelle feci delle vacche, anche nelle loro mammelle, esso verrebbe coi sopraccennati cocchi, lo *Streptococcus liquefaciens*, il *Tetracoccus* e il *M. pyogenes albus* a completare il perfetto riscontro con tutti i tipi di cocchi da me segnalati alla microflora mammaria.

In breve: nel suolo vergine polare e nelle feci degli animali polari si trova l'intera microflora mammaria quale io la dimostrai costituita essenzialmente da cocchi acidoproteolitici, i quali però sono commisti a molteplici cocchi che di fronte al latte e alla gelatina si comportano nelle più svariate maniere possibili. Fin dove questi diversi cocchi meritino la dignità di specie con denominazioni speciali è questione di apprezzamento personale; certo i criteri morfologici non sono sufficienti a giustificarli, imperocchè gli stessi Barthel e Orla Jensen, sebbene adottino i termini di *Micrococcus*, *Streptococcus* o *Tetracoccus* fondati sul modo di aggregazione cellulare, riconoscono che essi finiscono col confondersi. Dal canto mio fin da principio ho esitato a creare delle specie e nemmeno delle varietà fisse; mi sono limitato ad enumerare dei tipi; in seguito mi sono indotto ad assegnare dei nomi a qualcheduno dei tipi, più che altro per dare consistenza alle mie ricerche, la cui priorità veniva facilmente compromessa dall'indeterminismo numerale. Ora però, le mie recenti osservazioni sulle mutazioni fisiologiche brusche per divergenze individuali (14) mi fanno propendere a ravvisare nei cocchi mammari un gruppo unico di cocchi che nel suo complesso è dotato del duplice potere acidificante e proteolitico, senza però che con ciò si debba presumere che

tutte le cellule siano equabilmente attive nel doppio indirizzo; laonde nelle culture isolanti possono comparire colonie in cui prevale una delle due facoltà, in cui cioè le due facoltà sono esplicate in differente grado. Di qui la insorgenza di tutti i tipi possibili sopraccitati; tipi peraltro la cui stabilità è piuttosto effimera, problematica, essendo suscettibili di mutazioni brusche qualora nei trapianti la semente cada, per fatalità, sopra lotti di cellule appartenenti in prevalenza ad un tipo diverso da quello che era predominante nella cultura madre.

Analoghe disquisizioni metterebbe conto di fare a proposito dei batteri acidoproteolitici che ho rintracciato nei foraggi (15), ma mi riservo di ritornare sull'argomento in occasione di nuove ricerche che tengo in corso.

*
* *

Riassunto. — Ciò che mi preme di lumeggiare colla presente Nota può essere compendiato come segue:

Nella Stazione di Batteriologia Agraria di Stoccolma, diretta dal Prof. C. Barthel, è stato di recente dimostrato che nel suolo vergine polare artico e nelle feci di animali polari si trovano rappresentanti del gruppo dei miei batteri acidoproteolitici. Ora siccome questi stessi microbi si incontrano anche nel suolo abitato e nelle feci dell'uomo e degli animali a sangue caldo dei nostri paesi, ne derivano considerazioni interessanti sulla loro ubiquità.

D'altra parte, poichè alcuni di tali germi furono da me rivelati così nei foraggi come nella microflora delle mammelle vacchine donde passano nel latte e nei formaggi, la loro presenza puranco nei terreni vergini, non contaminati nè dall'uomo nè dal bestiame lattifero, conduce a induzioni importanti circa la loro circolazione nella natura. Si può cioè arguire che la culla originaria di questi batteri sia il suolo, da dove attraverso i foraggi arriverebbero nell'intestino e quindi nelle feci delle mucche; da qui poi troverebbero il modo di penetrare nei condotti galattofori delle mammelle durante il decubito delle bestie, in cui i capezzoli vengono a contatto colle materie stercoracee. Superfluo aggiungere che colle feci essi ritornano nello stallatico al suolo.

BIBLIOGRAFIA

1. BARTHEL CHR. - *Recherches bactériologiques sur le sol et sur les matières fécales des animaux polaires du Groénland Septentrional*. Copenhagen 1922.
2. VAN LOGHEM et VAN LOGHEM POURU - « Centralbl. f. Bakter. I. Abt. Orig. », 66, 1912, 19; « Annales Inst. Pasteur », 32, 1918, 295. V. anche WOLFE, « Journ. of Path. and Bakter. », 22, 1919, 289.
3. GORINI C. - « Giorn. R. Soc. Ital. Igiene », XVI. 1894, 4.
4. GORINI C. - Rendic. R. Acc. Lincei, 7 settembre 1902.

5. ESCHERICH TH. - *Die Darmbakterien des Säuglings und ihre Beziehung zur Physiologie der Verdauung* 1886, 77.
 6. FREUDENREICH E. - « Landw. Jahrb. d. Schweiz. », 1894, 136.
 7. ORLA JENSEN - *The lactic acid bacteria*. Kopenhagen 1919.
 8. LOEHNIS F. - « Handbuch der landw. Bakteriologie », 1910, pag. 199.
 9. GORINI C. - Rend. R. Acc. Lincei, 7 agosto 1910.
 10. GORINI C. - Rend. R. Ist. Lomb. Scienze e Lettere, 1906, 39; e 1907, 40.
 11. LOEHNIS F. - Loc. cit., p. 227.
 12. GORINI C. - Rendic. R. Acc. Lincei, ottobre 1917.
 13. BARTHEL CHR. - « Revue Générale du lait », I, 1902, 505.
 14. GORINI C. - Rend. R. Istituto Lombardo Sc. e Lett., 14 aprile 1921. - Rend. R. Acc. Lincei, 8 maggio 1921.
 15. GORINI C. - Annuario dell'Istituzione Agraria Ponti annessa alla R. Scuola Superiore di Agricoltura di Milano, VI, 1906.
-

